

| | |
|-------------|---|
| Title | 3 サル胚性幹細胞の肝細胞への分化と胎齡等を考慮した薬物動態試験への応用(X.共用利用研究 2.研究成果) |
| Author(s) | 松永, 民秀; 水上, 紗弥香; 百瀬, 泰行; 村井, 健太郎; 大森, 栄 |
| Citation | 霊長類研究所年報 (2006), 36: 103-103 |
| Issue Date | 2006-07-15 |
| URL | http://hdl.handle.net/2433/166274 |
| Right | |
| Type | Departmental Bulletin Paper |
| Textversion | publisher |

ンホーメーション多型を検出する RSCA 法を適用することにより、多コピー化した遺伝子配列の効率的な解析を行なうことに成功し(Tanaka-Takahashi Y, et al. 投稿準備中), Mamu-A, B ハプロタイプと SIV に対する宿主の応答との関連を見いだした。また同法はアカゲザルのみならず、ニホンザル、カニクイザルにおいても適用できる可能性があり、これらのマカク属の種においても MHC クラス I 遺伝子の多コピー化が生じていることが判った。

(2) 施設利用

1 酵母細胞を用いたサル肝 Microsomal aldehyde oxygenase 発現系の構築及び機能解析

渡辺和人, 舟橋達也, 山折大 (北陸大・薬・衛生化学)

対応者: 景山節

我々はニホンザル肝ミクロソームよりアルデヒドを対応するカルボン酸体へと酸化する酵素 (Microsomal aldehyde oxygenase, MALDO) を精製し、その N 末端アミノ酸配列から CYP2A 及び CYP2B 分子種であることを明らかにしてきた。そこで、本年度の研究ではニホンザル (雄・3 才) 肝臓より mRNA を抽出し、ヒト CYP2A6 cDNA の非翻訳領域を基に設定したプライマーを用いて RT-PCR 法により cDNA をクローニングした。その塩基配列を決定したところ、その推測されるアミノ酸配列はヒト CYP2A6 と 91.0 %, ヒト CYP2A13 では 92.3 % 一致した。クローニングした cDNA を発現用ベクターを用いて酵母に導入し、発現系の構築を試みた。ニホンザル CYP2A 発現酵母よりミクロソーム画分を調製し、ニホンザル MALDO 抗血清を用いて Western blotting を行ったところ、約 50 kDa の位置に単一のバンドが検出された。現在、発現酵母より調製したミクロソーム画分を用いて本酵素の酵素化学的な特性について検討している。

3 サル胚性幹細胞の肝細胞への分化と胎齢等を考慮した薬物動態試験への応用

松永民秀, 水上紗弥香, 百瀬泰行,
村井健太郎, 大森栄 (信州大・病院薬)

対応者: 景山節

【目的】サル胚性幹細胞 (ES 細胞) から肝細胞への分化誘導に関する研究はこれまでほとんど行われていない。本研究は、カニクイザル ES 細胞から肝細胞への分化と、分化過程から見出した新規シトクロム P450 (CYP) の mRNA 発現を明らかにすることを目的とした。

【方法】サル ES 細胞より作成した胚様体 (EB) をコラーゲン処理したプレートに接着させ、培養することにより分化した。

【結果・考察】EB 培養により肝細胞マーカーが検出されたことから、肝細胞へ分化していることが示唆された。また、薬物代謝型分子種の CYP1A1, CYP2C20, CYP2D17, CYP3A66, CYP3A8 の mRNA が検出された。さらに、ヒト胎児肝細胞に特異的に発現する CYP3A7 と高い相同性を有する新規 CYP (CYP3A7m) を EB 培養

細胞より見出した。CYP3A7m の mRNA は、ES 細胞の分化初期に発現していることが確認できたが、胎齢 170 日のニホンザル胎児の肝には全く検出されなかった。一方、母ザルの肝には検出されたことから、CYP3A7m は CYP3A7 と異なり胎児特異的に発現する分子種ではない可能性が示唆された。

4 飼育下チンパンジーの腸内細菌検索

牛田一成, 上西源太郎 (京都府立大・院・農)

対応者: 景山節

チンパンジーの腸内細菌はほとんど知られていない。そこで、野生チンパンジー個体と腸内細菌叢の構成を比較する目的で霊長類研究所飼育下チンパンジー個体の糞便を採取し、細菌検索に供した。いわゆるビフィズス菌 (*Bifidobacterium* spp.) は、ヒトでは優勢な細菌であり、さらに保健効果を有する有用細菌として知られている。これまでのわれわれの研究から、チンパンジーにおいてもビフィズス菌がボソウ野生個体に共通する細菌として検出されることがわかった。そこで、霊長研飼育個体群からビフィズス菌の分子生態学的検出を試みた。ビフィズス菌 16S rRNA 遺伝子の特異配列をターゲットとした Real time-PCR および増幅産物のシーケンスに基づく系統解析を行った。霊長研個体群では、成人の場合検出レベルが低く ($<10^3$ /g)、一方霊長研で誕生した子供ではヒトと同様のレベル (10^8 - 10^9 /g) で検出された。検出された配列は、*B.dentium*, *B.adolescentis*, *B.pseudolongum* でいずれもヒトで優勢な種であった。これらのものは、Bossou 個体群からは検出されなかったもので、ヒトからの伝播を考慮する必要が示唆された。このように、飼育下のチンパンジーの腸内細菌叢は野生個体と基本構造は類似するものの優勢な菌種のレベルでは異なっており、今後の検討がさらに必要である。

5 ニホンザルの古分布の復元に関する研究

三戸幸久 (ニホンザル・フィールドステーション)

対応者: 渡邊邦夫

ニホンザルについての過去の分布資料から、ニホンザル古分布の復元を目指している。資料としては、すでに長谷部資料 (1923, 三戸による判読, 1989), 岸田 (1953), 竹下 (1962), 竹下 (1970, 未発表), 環境省 (1978) をはじめ、縄文遺跡や各種古文書のデータ入力が終わっている。その資料を基に 3D 地図の上において立体的な分布状況復元とその変遷過程を明らか

にする作業を行った。まずこうした文献は図化されたものと地名でしか残されていないもの、あるいは地名も町名や村名だけとか山地名だけとか様々なので、その統一した入力方法を検討した。その上で、地図上に分布資料を重ね合わせ、時代的な変遷を検討している。資料が膨大であるため、現在も作業は継続中である。

6 ヒト内在性レトロウイルス遺伝子のヒトゲノム侵入時期の検証

小田高也 (琉球大・院・生命統御)

対応者: 景山節

H16-17 年度に採択された基盤研究「データベースを利用したヒト内在性レトロウイルス関連遺伝子を持つ転写能の検討」により NCBI の dbEST および nr データベースをスクリーニングした結果、脳で発現する可能性を有するヒト内在性レトロウイルス関連の転写物の解析候補ローカスを 24 箇所見いだした。胎児脳由来 RNA を用いた RT-PCR で検証実験を行った所、1p36.13 には HUERS-P3b に属する HERV 転写物が、また 5p15.33 には HERVK9 に属する転写物の存在が確認できた。

17 年度に胎盤での特異的発現を報告した 1 ローカスを加えた合計 3 ローカスのヒト内在性レトロウイルスに関して、霊長類の進化との関連を考察するためにゲノム DNA を用いてホストへの進入時期の検証を PCR ベースの実験で行った (チンパンジー・ニホンザル・アカゲザル・コモンマーモセット・フサオマキザル・ヨザル・クモザル・ギャラコを使用)。その結果 1p36.13 の HUERS-P3b および 5p15.33 の HERVK9 は共にヒトとチンパンジーでのみ増幅が得られたことから、これらはヒトが旧世界ザルと分化した後でゲノムへ進入したと考えられた。胎盤での特異的発現を示す 21q22.3 の HERVF(typeB)はヒトでのみ増幅され、進入時期は更に新しいと推定された。今後は増幅産物の塩基配列の比較も行なうなど、更に詳細に検証する予定である。

7 チンパンジー幼児の砂遊びにおける象徴的操作の実験的分析: 2~4 歳齢段階のまとめ

武田庄平 (東京農工大・比較心理)

対応者: 松沢哲郎

不定形な"かたち"ゆえの多義的性質を有する砂の操作を自発的な遊びという文脈の中で捉え、チンパンジー幼児の認知機能の発達の分析を 2 歳齢~4 歳 9 ヶ月齢段階においてこれまで行ってきた。今回はこれらの結果を再度見直すために、研究所に保存してある過去 3